

Lipazy roślinne – struktura molekularna, rola w ontogenezie oraz potencjał biotechnologiczny

lic. Alan Stafiej,

mgr Karolina Wleklak,

lic. Marta Przybylak,

prof. UAM dr hab. Sławomir Borek✉

Zakład Fizjologii Roślin, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

https://doi.org/10.18388/pb.2021_539

✉ autor korespondujący: borek@amu.edu.pl

Słowa kluczowe: autofagia, ciało olejowe, lipidy, lipoliza, przemysł, triacyloglicerole

Podziękowania: Praca związana z grantem Narodowego Centrum Nauki nr 2016/23/B/NZ3/00735

STRESZCZENIE

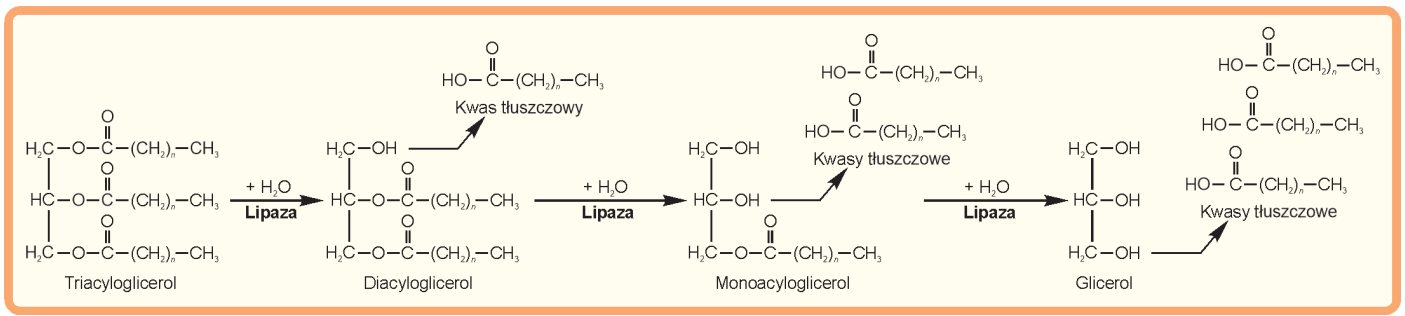
Lipazy to enzymy powszechnie występujące w mikroorganizmach, grzybach, roślinach i zwierzętach. Ich główną funkcją w metabolizmie komórki jest hydroliza (lipoliza) wiązań estrowych pomiędzy kwasami tłuszczowymi a glicerolem w mono-, di- i triacyloglicerolach. U roślin lipazy odgrywają ważną rolę w ontogenezie, uczestnicząc zarówno w rozwoju wegetatywnym, jak i w stadiach generatywnych. Enzymy te mogą też być komponentem reakcji roślin na biotyczne i abiotyczne czynniki stresowe. Bazując na podobieństwie sekwencji aminokwasowej i wakuolarniej lokalizacji niektórych lipaz roślinnych do drożdżowego Atg15 przedstawiamy hipotezę o udziale lipaz w autofagii (a dokładniej w degradacji ciała autofagowego) u roślin. Pomimo wąskiej specyfiki substratowej i rodzaju katalizowanych reakcji w komórkach, lipazy znajdują liczne zastosowania biotechnologiczne. Cechy fizykochemiczne lipaz warunkujące np. szeroką specyfikę substratową w warunkach *in vitro* czy wysoką stabilność w szerokim zakresie pH i temperatury, powodują że enzymy te są obiektem badań o charakterze aplikacyjnym, a lipazy roślinne wykazują coraz większy potencjał w tym obszarze nauki i przemysłu.

WPROWADZENIE

Według klasyfikacji Komitetu Nazewnictwa Międzynarodowej Unii Biochemii i Biologii Molekularnej, lipazy zostały przyporządkowane do hydrolaz katalizujących rozszczepienie wiązań estrowych w cząsteczkach acylogliceroli (EC 3.1.1.3; baza danych BRENDA) i powinny być odróżniane od esteraz (EC 3.1.1.1). Lipazy katalizują reakcje hydrolizy substratów nierozpuszczalnych w wodzie, takich jak triacyloglicerole czy inne poliestry zbudowane z długołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Esterazy natomiast preferują substraty rozpuszczalne w wodzie i wykazują wysoką aktywność względem lipidów zbudowanych z kwasów tłuszczowych o krótkich łańcuchach węglowych [1].

W roku 1856 Francuski badacz Claude Bernard jako pierwszy zidentyfikował enzym o aktywności lipolitycznej. Dokładniej, zauważył on, że sok trzustkowy zwierząt był w stanie z łatwością degradować tłuszcz pochodzący z masła i oleju. Kilka lat później Balser, Langerhans i Flexner scharakteryzowali „ferment” trzustkowy, który rozszczepiał tłuszcz. Z kolei w 1909 roku Whitehead udowodnił, że tłuszcz nie jest w stanie dostać się do komórki w postaci niezhydrolizowanej [2]. W następstwie opisanych wyżej odkryć świat naukowy potwierdził powszechne występowanie lipaz w mikroorganizmach, organizmach roślinnych i zwierzęcych. Jednym z późniejszych kierunków badań były próby krystalizacji wybranych lipaz, głównie pochodzenia mikrobiologicznego. Zazwyczaj były to lipazy grzybowe. Pierwsze próby krystalizacji nie dawały zadowalających wyników, co było spowodowane niską jakością prób, a tym samym niską rozdzielczością obrazów analizy krystalograficznej [3]. Z biegiem lat udało się uzyskać odpowiednie jakościowo próby, które umożliwiły opisanie struktury przestrzennej enzymu. Niemniej jednak, pomimo poznania sekwencji aminokwasowej, nie uzyskano formy krystalicznej żadnej lipazy roślinnej [4]. Zidentyfikowano jednak podobieństwa strukturalne lipaz do innych enzymów, takich jak esterazy, proteazy, dehalogenazy, hydrolazy epoksydowe, czy peroksydazy, a tym samym umożliwiło to ich zaklasyfikowanie do rodziny fałdowanych hydrolaz α/β [3-6]. Lipazy zalicza się do hydrolaz serynowych, które w centrum aktywnym zawierają triadę aminokwasów katalitycznych: serynę, kwas asparaginowy lub glutaminowy i histydynę [6].

Pomimo, że lipazy w organizmach żywych pełnią raczej wąsko zdefiniowaną funkcję polegającą na degradacji acylogliceroli do wolnych kwasów tłuszczowych i glicerolu, to w warunkach sztucznych, w tym warunkach niewodnych, enzymy te katalizować mogą wiele innych reakcji chemicznych, ważnych dla zastosowań biotechnologicznych. Dlatego w pierwszej części artykułu skupiono się na przedstawieniu wiedzy o strukturze molekularnej lipaz, ich lokalizacji



Rycina 1. Schemat deestryfikacji (hydrolizy, lipolizy) tri-, di- i monoacyloglicerolu katalizowany przez lipazę. Produktami reakcji są wolne kwasy tłuszczowe i glicerol.

tkankowej i komórkowej oraz roli tych enzymów w metabolizmie i ontogenezie roślin. Przedstawiono również nową hipotezę dotyczącą roli lipaz w autofagii w komórkach roślinnych, a dokładniej ich potencjalnego udziału w degradacji ciał autofagowych zachodzących u roślin w wakuolach. W drugiej części niniejszego opracowania przedstawione zostały zastosowania i biotechnologiczny potencjał lipaz roślinnych.

STRUKTURA MOLEKULARNA I REAKCJE KATALIZOWANE PRZEZ LIPAZY W ORGANIZMACH ŻYwych

STRUKTURA MOLEKULARNA LIPAZ

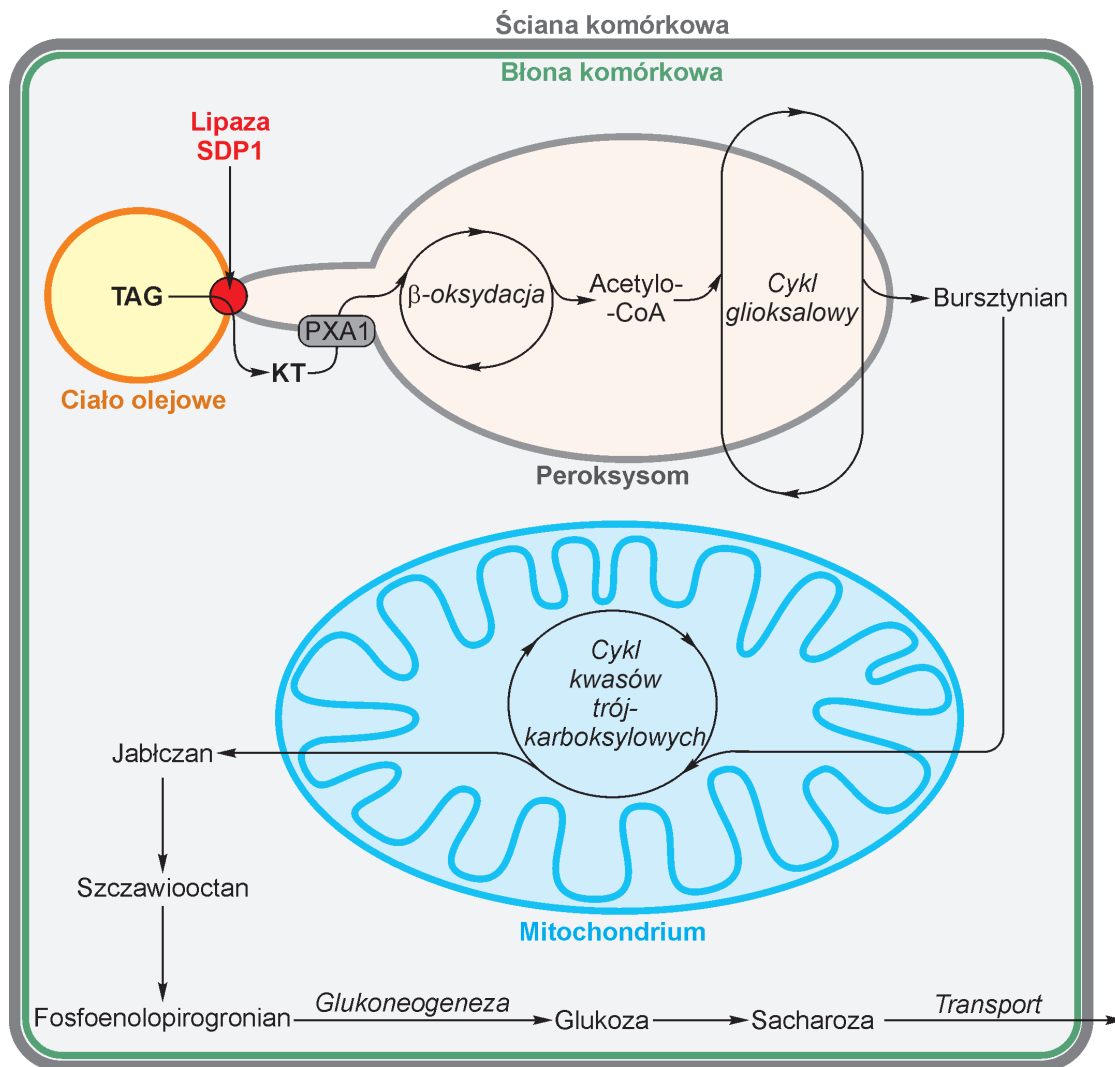
Molekularna struktura przestrzenna wszystkich lipaz jest podobna, pomimo występowania znacznych różnic w sekwencji aminokwasowej, czy wielkości samego enzymu, która wynosić może od mniej niż 20 do około 60 kDa [7]. Lipazy, podobnie jak inne hydrolazy α/β , zawierają w swojej strukturze arkusz zbudowany z ośmiu równoległych β -harmonijek (druga jest w pozycji antyrównoległej), uporządkowanych jako 12435678. Nici $\beta 3$ do $\beta 8$ połączone są α -helisami rozmieszczonymi po bokach centralnego arkusza. Centrum aktywne enzymu zawiera tzw. triadę katalityczną, która jest konserwatywna dla lipaz i zbudowana jest z seryny (nukleofil), kwasu asparaginowego lub glutaminowego (reszta kwasowa) i histydyny, i jest bardzo podobna do triady obserwowanej w proteazach serynowych; różni się tylko kolejnością aminokwasów w sekwencji [6-8]. Taka kolejność aminokwasów w budowie triady katalitycznej jest kluczowa dla prawidłowego ułożenia spłotów i zgięć w strukturze trójwymiarowej całego enzymu. Seryna jest odpowiedzialna za zgięcia, kąty czy skręcenia głównego łańcucha enzymu, a dzięki charakterystycznemu ułożeniu prowadzi do utworzenia ostrego skrętu w strukturze szkieletu białkowego, tzw. łokcia nukleofilowego (z ang. nucleophilic elbow) [7]. W strukturze większości lipaz występuje również konserwatywny motyw w sekwencji aminokwasowej: Gly-x-Ser-x-Gly (GxSxG; GSG). Ten 5-aminokwasowy motyw zlokalizowany jest na N-końcu białka i zawiera kluczową dla katalizy enzymatycznej serynę [6,9,10]. Niemniej jednak niektóre lipazy zamiast motywu Gly-x-Ser-x-Gly zawierają inny konserwatywny motyw: Gly-Asp-Ser-Leu (GDSxxDxG; GDSL, zwane też lipazami GELP), który również zlokalizowany jest na N-końcu [6,9,10]. Lipazy GDSL zawierają cztery reszty katalityczne: Ser, Gly, Asn i His [10],

ale nie posiadają tzw. łokcia nukleofilowego [6]. W trakcie reakcji katalizowanej przez lipazy powstaje produkt pośredni (oksoanion), który stabilizowany jest przez wiązania wodorowe pomiędzy dwoma aminokwasami tworzącymi tzw. dziurę oksoanionową. Wyróżnia się trzy typy (klasy) dziury oksoanionowej (GX, GGGX i Y) i mają one istotne znaczenie i dla specyfiki substratowej lipaz [6]. W wielu lipazach za prawidłowe wykształcenie dziury oksoanionowej odpowiada też wieko znajdujące się w pozycji otwartej [7]. W prawidłowej budowie lipaz obserwuje się mostki dwusiarczkowe, które warunkują stabilność i są istotne dla aktywności katalitycznej enzymu [6]. Lipazy są często glikozylowane. Przykładem wysoko glikozylowanego enzymu może być lipaza trzustkowa, u której reszty cukrowe stanowią do 15% masy. Zazwyczaj glikozylacja lipaz warunkuje ich rozpuszczalność w wodzie, stabilność i aktywność [7].

Lipazy najczęściej działają na granicy fazy lipid-woda i ich aktywność jest ściśle połączona z elementami strukturalnymi, które warunkują zmienną dostępność substratów do miejsca aktywnego enzymu. Tymi elementami są zlokalizowane ponad centrum aktywnym enzymu ruchome amfipatyczne pętle peptydowe zwane wiekiem (ang. lid). W warunkach wodnych wieko jest przeważnie zamknięte i miejsce aktywne enzymu jest wtedy chronione przed środowiskiem zewnętrznym, i tym samym nie jest ono dostępne dla substratów - enzym nie jest aktywny. Jednakże w obecności warstwy hydrofobowej wieko zmienia konformację, otwierając tym samym dostęp substratów do miejsca aktywnego lipaz. Taka regulacja aktywności enzymu wymagająca istnienia granicy fazy apolarnej i wodnej nosi nazwę aktywacji międzyfazowej [8,11].

SPECYFICZNOŚĆ SUBSTRATOWA LIPAZ

Zasadniczą reakcją katalizowaną przez lipazy w organizmach żywych jest hydroliza wiązań estrowych pomiędzy kwasami tłuszczowymi a glicerolem w cząsteczkach triacylogliceroli, a w konsekwencji tej reakcji, kolejno w cząsteczkach diacylogliceroli i ostatecznie monoacylogliceroli. Produktami tych reakcji jest glicerol i wolne kwasy tłuszczowe [1,6,12-15] (Ryc. 1). Triacyloglicerole są jednymi z głównych materiałów zapasowych w tkankach roślinnych i zdeponowane są one w ciałach olejowych rozproszonych w cytoplazmie [16]. Lipazy rozkładające zapasowe triacyloglicerole określane są jako lipazy SDP lub SDP1 (ang. SUGAR-DE-



Rycina 2. Schemat obrazujący współdziałanie peroksysomów i ciał olejowych w katalizowanym przez lipazy rozkładzie zapasowych triacylogliceroli oraz przemiany uwolnionych w trakcie lipolizy kwasów tłuszczowych w komórkach roślinnych. Zasocjowane z błoną peroksysomu lipazy SDP1 przemieszczane są na powierzchnię ciała olejowego poprzez peroksule, czyli tubularne struktury błony peroksysomalnej. Uwolnione w trakcie lipolizy kwasy tłuszczowe ulegają β -oksydacji, która zachodzi w peroksysomie. Acetylo-CoA staje się substratem cyklu glioksalowego, który częściowo zachodzi w peroksysomie i częściowo w cytoplazmie. Bursztynian zostaje przetransportowany do mitochondrium, gdzie wskutek aktywności niektórych enzymów cyklu kwasów trójkarboksylowych (cykl TCA, cykl Krebsa) ulega przemianie do jabłczanu. W cytoplazmie, w procesie glukoneogenezy, odtworzone zostają cukry proste, które wykorzystane mogą być w tej samej komórce, albo po konwersji do sacharozy, być przetransportowane do innych komórek, tkanek czy organów roślinnych [16,25]. KT – kwasy tłuszczowe, PXA1 – peroksysomalny transporter ABC, SDP1 – SUGAR-DEPENDENT1, TAG – triacyloglicerole.

PENDENT) [17] i są jednymi z najlepiej poznanych jak do tej pory lipaz roślinnych [14]. Aktywność lipaz katalizujących rozkład triacylogliceroli u roślin może być regulowana m. in. przez poziom końcowego produktu degradacji zapasowego tłuszczu, jakim są cukry (glukoza i sacharoza) [16] (Ryc. 2). Substratami lipaz mogą też być fosfolipidy. Przykładem jest plastydowa lipaza PLIP [18], czy Atg15 – drożdżowy enzym działający w wakuoli [19].

LOKALIZACJA I FUNKCJE LIPAZ W ROŚLINACH

EKSPRESJA GENÓW KODUJĄCYCH LIPAZY

Udowodniono, że RNA wyekstrahowane z tarczki zarodkowej kiełkujących ziarniaków kukurydzy (*Zea mays*) jest nośnikiem informacji genetycznej koniecznej do syntezy lipaz *de novo* na wolnych polirybosomach. Podczas kiełkowania ziarniaków kukurydzy, mRNA kodujące lipazy zidentyfikowane zostało pomiędzy drugim a szóstym

dniem, szczyt jego zawartości osiągany był piątego dnia, a następnie szybko zanikał [20]. Badania na kiełkujących nasionach i siewkach mutantów rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana*) wykazały, że ekspresja genu SDP1 kodującego domenę patatynową lipazy triacyloglicerolu jest kluczowa dla zainicjowania rozkładu zapasowego tłuszczu we wczesnych stadiach wzrostu i rozwoju rośliny [17]. Z kolei supresja ekspresji genów rodziny lipaz SDP1 skutkowała podwyższonym poziomem akumulacji zapasowego tłuszczu w dojrzewających nasionach rzepaku (*Brassica napus*) [21]. Transkrypty genów kodujących lipazy (w tym lipazę SDP1) zostały również zidentyfikowane w osiach zarodkowych kiełkujących nasion różnych gatunków łubinu (*Lupinus spp.*), których poziom był wyraźnie wyższy w warunkach głodu węglowego [22-24]. Analiza bioinformatyczna całego genomu kilkunastu gatunków roślin wskazuje na istnienie dziesiątek lub setek (od 70 u *Prunus avium* do 194 u *Malus domestica*) genów kodujących lipazy GDSL, aczkol-

wiek biologiczna funkcja tych lipaz u roślin nie została jeszcze w pełni opisana [10]. Niemniej jednak dla części genów kodujących lipazy GDSL potwierdzono ekspresję i opisano biologiczną funkcję w organach, tkankach i wydzielinach różnych gatunków roślin [9]:

- Rzodkiewnik pospolity (*Arabidopsis thaliana*) – rozwijające się nasiona, korzenie przybyszowe, siewki, liście, rozety liściowe, pędy, pąki kwiatowe, kwiatostany, pręciki, nasiona;
- Ryż siewny (*Oryza sativa*) – międzywęźla, liście, komórki epidermy;
- Kapusta rzepek (*Brassica napus*) – rozwijające się i kiełkujące nasiona, liście, pędy, pąki kwiatowe;
- Papryka roczna (*Capsicum annuum*) – tkanki przewodzące;
- Lucerna siewna (*Medicago sativa*) – brodawki korzeniowe;
- Bawełna kosmata (*Gossypium hirsutum*) – zalążki i włókna;
- Pomidor zwyczajny (*Solanum lycopersicum*) – egzokarp rozwijającego się owocu;
- Wrotycz starcolistny (*Tanacetum cinerariifolium*) – siewki, liście, pąki kwiatowe, kwiaty;
- Jakaranda mimozolistna (*Jacaranda mimosifolia*) – nektar kwiatowy;
- Rauwolfia żmijowa (*Rauwolfia serpentina*) – liście;
- Wyczyniec polny (*Alopecurus myosuroides*) – liście siewki;
- Agawa amerykańska (*Agave americana*) – epiderma liścia;
- Kukurydza zwyczajna (*Zea mays*) – siewki, korzenie.

LIPOLIZA

Lipazy przejawiają wysoką aktywność podczas kiełkowania nasion i wzrostu siewek. Wykazują one wtedy lokalizację skorelowaną z powierzchnią organelli magazynujących lipidy, czyli z powierzchnią ciał olejowych [12,14,15,25,26] (Ryc. 2). Ciało olejowe (zwane też oleosomem, ciałem tłuszczowym, ciałem lipidowym, kroplą olejową lub kroplą tłuszczu/tłuszczową) to organellum zbudowane z acylglicerolowego rdzenia (zawartości), otoczonego monowarstwą fosfolipidów, w której zakotwiczone są białka - oleozyny, kaleozyny i steroleozyny, spośród których dominują oleozyny [27]. Jedną z funkcji oleozyn jest kontrola struktury i rozmiaru ciał olejowych poprzez zapobieganie ich niekontrolowanej fuzji [12]. Początkowo uważano, że oleozyny są miejscem wiązania lipaz na powierzchni ciała olejowego [28,29], ponieważ lipazy nie przyłączały się do innych organelli [29]. Jednakże późniejsze badania dowiodły, że oleozyny najpierw ulegają ubikwitynacji i są degradowane przez proteasomy, a dopiero po rozkładzie tych białek lipazy są dostarczane na powierzchnię ciał olejowych za pomocą peroksysomalnych wypustek, czyli tzw. peroksul [25]. Dostarczane na powierzchnię ciał olejowych lipazy, to głównie lipazy SDP1, które przeprowadzają reakcje lipolizy, czyli degradacji zapasowych triacylogliceroli [12,14,15,25,26] (Ryc. 1). Uwolnione przez lipazy do cytoplazmy kwasy tłuszczowe transportowane są do peroksysomów przez peroksysomalny transporter ABC (PXA1) [14,15] i ulegają następnie licznym przemianom metabolicznym na które składa się β -oksydacja w całości zlokalizowana w peroksysomach, cykl glioksalowy zachodzący częściowo w peroksysomach i częściowo w cytoplazmie, fragment cyklu kwa-

sów trójkarboksylowych (cykl Krebsa) i finalnie w trakcie zachodzącej w cytoplazmie glukoneogenezy przekształcane są w glukozę i sacharozę [16] (Ryc. 2).

U roślin związki lipidowe gromadzone są nie tylko w ciałach olejowych, ale również w niektórych typach plastydów. W leukoplastach (występujących we włoskach wydzielniczych) gromadzone są oleje aromatyczne, a w elajoplastach deponowany jest tłuszcz zapasowy, podobnie jak ma to miejsce w ciałach olejowych tkanek i organów spichrzowych, jak np. w bielmie czy liścieniach nasion [30]. Niemniej jednak nie ma danych literaturowych odnoszących się do lokalizacji lipaz w tych organellach.

LIPAZY W EWOLUCJI I ONTOGENEZIE ROŚLIN

W ujęciu ewolucyjnym lipazy GDSL (GELP) pojawiły się u ostatniego wspólnego przodka Zygnematophyceae (głonów) i roślin lądowych i aktualnie występują u wszystkich roślin lądowych. Enzymy te są jednymi spośród wielu białek uczestniczących w biosyntezie i polimeryzacji związków budujących kutykulę (głównie kutyny i suberyny), a pojawienie się kutykuli (ok. 450 mln lat temu) i ściany komórkowej uważane jest za jeden z kamieni milowych w ewolucji roślin, umożliwiającą im kolonizację lądu [10]. Ponadto lipazy GDSL upowszechniły się u ewolucyjnie pierwotnych widłaków – grupie roślin, która wyodrębniła się krótko po pojawieniu się wiązek przewodzących, co również wskazuje na ważną rolę tych enzymów w ewolucji roślin naczyniowych [10].

Lipazy odgrywają kluczową rolę w początkowych etapach kiełkowania nasion i ziarniaków oraz wzrostu i rozwoju siewek. Zawartość oleju w kiełkujących nasionach zmniejsza się sukcesywnie, co wskazuje na zachodzenie procesu jego hydrolizy katalizowanej przez lipazy (lipoliza). Aktywność lipaz została potwierdzona w kiełkujących nasionach i ziarniakach niezależnie od ilości magazynowanego w nich tłuszczu. Najlepiej pod tym względem zbadane są nasiona oleiste *Arabidopsis thaliana* [14], ale aktywność lipaz potwierdzono również w kiełkujących białkowych nasionach różnych gatunków łubinu (*Lupinus spp.*) [16,23], jak i w kiełkujących skrobiowych ziarniakach kukurydzy (*Zea mays*) [31] czy ryżu (*Oryza sativa*) [32]. Finalnymi produktami degradacji zapasowych lipidów u roślin są cukry, takie jak glukoza i sacharoza (Ryc. 2), które wykorzystywane są w licznych procesach anabolicznych, ale też mogą być wykorzystywane jako substraty oddechowe w rozwijających się siewkach [16]. W nasionach i siewkach *Arabidopsis thaliana* stwierdzono występowanie lipazy OBL1 (ang. *Oil body lipase 1*), która wykazuje wspólną lokalizację z ciałami olejowymi i katalizuje rozkład tri-, di- i monoacylogliceroli, ale kiełkowanie nasion oraz wzrost i rozwój siewki nie był zakłócony u mutantu *obl1*, pomimo tego, że lipaza OBL1 warunkuje zdecydowaną większość aktywności lipolitycznej u tego gatunku [33]. W wydłużających się koleoptylach ryżu, wykazano ekspresję genu *GER1*, który koduje motyw lipazy GDSL. Stwierdzono też, że ekspresja genu *GER1* może być stymulowana przez kwas jasmonowy lub światło, i negatywnie regulować wydłużanie koleoptyli u tego gatunku [10]. Lipazy wraz z auksynami biorą udział w rozwoju korzeni bocznych u *Arabidopsis thaliana*, co powiązane

jest z regulacją odkładania i degradacji suberyny w ścianach komórkowych komórek endodermalnych pokrywających primordia, czyli zawiązki korzeni bocznych. Regulatorowa rola auksyn w tym procesie polega na stymulacji ekspresji genów wybranych lipaz, które zaangażowane są zarówno w proces polimeryzacji jak i degradacji suberyny podczas inicjacji wzrostu korzeni bocznych. Przypuszcza się również, że lipazy uczestniczą w sieci regulatorowej, w której to etylen kontroluje wzrost korzeni, ale ten obszar wymaga dalszych badań [10]. Lipazy pośredniczą w metabolizmie kutykuli i krzemionki, która wpływa na wysokość roślin. W tym aspekcie przyjmuje się, że kluczową rolę odgrywają lipazy GDSL zlokalizowane w apoplacie epidermy. Lipazy DR (ang. DROOPING LEAF; należące do lipaz GDSL) zaangażowane są w odkładanie krzemionki w naskórku pod warstwą kutykuli w liściach, a lipazy WDL1 (ang. Wilted Dwarf and Lethal1) związane są z prawidłowym wzorem odkładania kutyny na powierzchni komórek epidermy. Mutanty *dr* i *wdl1* *Arabidopsis thaliana* reprezentują pokrój karłowaty i są letalne na wczesnych etapach rozwoju siewki wskutek nadmiernej utraty wody. Badania te wskazują na udział lipaz w metabolizmie krzemionki i składników kutykuli, który przekłada się na wysokość rośliny, ale ten aspekt regulacji wzrostu rośliny nie jest jeszcze dobrze poznany [10]. Modelowanie powierzchni komórek naskórka jest również ściśle powiązane z rozwojem aparatów szparkowych, które odgrywają kluczową rolę w interakcjach rośliny ze środowiskiem zewnętrznym. Wykazano, że pewne lipazy GDSL związane z siateczką śródplazmatyczną i ciałami olejowymi u *Arabidopsis thaliana* uczestniczą we wczesnej biosyntezie wosku i formowaniu kutykularnej krawędzi komórek szparkowych, a mutanty w obrębie tych genów przejawiały mniejszą konduktywność szparkową spowodowaną warstwą kutykuli uformowaną pomiędzy krawędziami komórek aparatu szparkowego. Sugeruje się więc, że zależne od lipaz GDSL modelowanie powierzchni komórek epidermy ma znaczenie w prawidłowym wykształceniu i funkcjonowaniu aparatów szparkowych u roślin [10].

Lipazy pełnią istotną funkcję w stadiach generatywnych roślin, głównie podczas rozwoju kwiatów i nasion. Lipazy są uważane za jedne z najważniejszych enzymów biorących udział w rozwoju pyłku. Lipidy i lipazy są konieczne dla wytworzenia prawidłowej struktury kutykuli pylnika i ściany ziarna pyłku. Mutacje genów kodujących enzymy związane z metabolizmem lipidów, w tym mutacje genów kodujących lipazy, mogą wywoływać męską sterylność u roślin, która jest rezultatem nieprawidłowego wykształcenia się pręcików oraz zaburzoną funkcjonowaniem komórek tapetum w pylnikach [10]. Lipazy (głównie SDP1-like, ale też inne lipazy) przejawiają wysoką aktywność w dojrzałych ziarnach pyłku *Arabidopsis thaliana*, warunkując ich prawidłowe kielkowanie i wzrost łagiewki pyłkowej [14]. W łagiewkach pyłkowych tego gatunku stwierdzono wysoki poziom lipazy OBL1, a mutant *obl1* przejawiał wolniejszy wzrost łagiewki pyłkowej *in vivo* [33]. Lipazy są również istotne w procesie rozwoju żeńskich organów płciowych roślin. Podobne do lipaz kutynazy biorą udział w degradacji kutykuli znamienia słupka, co jest konieczne do prawidłowego zapylenia [10]. Dodatkowo, lipazy mogą być składnikiem nektaru, który odgrywa ważną rolę w przyciąganiu zapylaczy u roślin. Przykładem może być nektar kwiatów

Jacaranda mimosifolia, którego składnikiem jest białko JNP1, wykazujące aktywność lipazy/esterazy. Nektar tego gatunku zawiera dużo związków lipofilnych i wolnych kwasów tłuszczowych uwalnianych przez JNP1, które są atrakcyjne dla zapylaczy [10,34]. Lipazy odgrywają też rolę po zapyleeniu i zapłodnieniu, wpływając na poziom akumulowanego tłuszczu w rozwijających się nasionach. W chloroplastach *Arabidopsis thaliana* zidentyfikowano lipazę plastydową 1 (PLIP1) będącą fosfolipazą A1. Jest to lipaza związana z błonami tylakoidowymi chloroplastów i jej aktywność przekłada się na efektywność biosyntezy i akumulacji zapasowego tłuszczu w dojrzałych nasionach. Lipaza ta uwalnia *trans*-wielonienasyconą grupę acylową ze specyficznych dla chloroplastów fosfatydylogliceroli. Uwolnione przez tę lipazę kwasy tłuszczowe mogą być wbudowane w inne fosfolipidy błon chloroplastowych (głównie w fosfatydylocholine) lub w triacyloglicerole, które deponowane są w ciałach olejowych. Geny *PLIP1* wykazują wysoki poziom ekspresji w dojrzewających nasionach *Arabidopsis thaliana*. Nasiona mutanta insercyjnego *plip1* zawierały około 10% mniej grup acylowych (co wskazuje na niższy poziom zapasowych triacylogliceroli), ale nasiona mutantów z nadekspresją genu *PLIP1* zawierały od 40 do 50% więcej grup acylowych niż nasiona roślin dzikich [18]. Rola lipaz w rozwoju owoców jest słabo zbadana i wydaje się, że te enzymy nie są kluczowe dla prawidłowego przebiegu tego stadium rozwoju roślin. Stwierdzono, że mutacje w obrębie wybranych genów lipaz nie wpływają na rozmiar owoców u pomidora (*Solanum lycopersicum*), a na podstawie analiz bioinformatycznych przypuszcza się tylko, że niektóre lipazy GDSL mogą być związane z rozwojem owoców u roślin z rodziny *Rosaceae* [10]. Istnieją jednak dane pokazujące, że niektóre lipazy mogą poprawiać specyficzne parametry konsumpcyjne owoców pomidora. Zidentyfikowano bowiem lipazę LIP8, która odpowiada za wytwarzanie lotnych związków organicznych pochodzących z kwasów tłuszczowych (ang. *Fatty acid-derived volatile organic compounds*, FA-VOCs). Są to krótkołańcuchowe acyle zbudowane z 5-6 atomów węgla i warunkują one smak owoców, czyniąc je bardziej atrakcyjnymi dla człowieka. Prekursorami tych związków jest kwas linolowy (18:2; 18-węglowy, dwunienasycony) i kwas linolenowy (18:3), aczkolwiek dokładny przebieg początkowych etapów biosyntezy tych związków nie jest w pełni poznany. Angażując jednak techniki związane z metabolomiką i genomiką zidentyfikowano gen *LIP8*, którego poziom ekspresji był ściśle skorelowany z akumulacją FA-VOCs, a badania *in vitro* wykazały, że lipaza LIP8 może katalizować reakcje rozszczepienia wielu wolnych kwasów tłuszczowych, w tym kwasu linolowego i linolenowego [35].

Lipazy identyfikowane są nie tylko w komórkach, ale mogą one również być składnikiem wydzielin wytwarzanych przez rośliny. U *Arabidopsis thaliana* wiele lipaz GDSL zawiera peptydową sekwencję sygnałną (od 13 do 113 aminokwasów), która pozwala na kierowanie takich białek na zewnątrz komórki. Analiza sekwestromu zawiesiny komórkowej *Arabidopsis thaliana* pozwoliła zidentyfikować białka zawierające domeny GDSL, które wykazywały aktywność lipolityczną *in vitro* i były lokalizowane w przestrzeni pozakomórkowej lub w ścianie komórkowej [9]. Jak już wyżej wspomniano, lipazy są składnikiem nektaru produkowanego w kwiatach Jakarandy mimozolistnej (*Jacaranda mimosifolia*)

lia) [34], ale są też składnikiem lateksu wytwarzanego przez Melonowca właściwego (*Carica papaya*) [36].

ROLA LIPAZ W REAKCJACH ROŚLIN NA ABIOTYCZNE I BIOTYCZNE CZYNNIKI STRESOWE

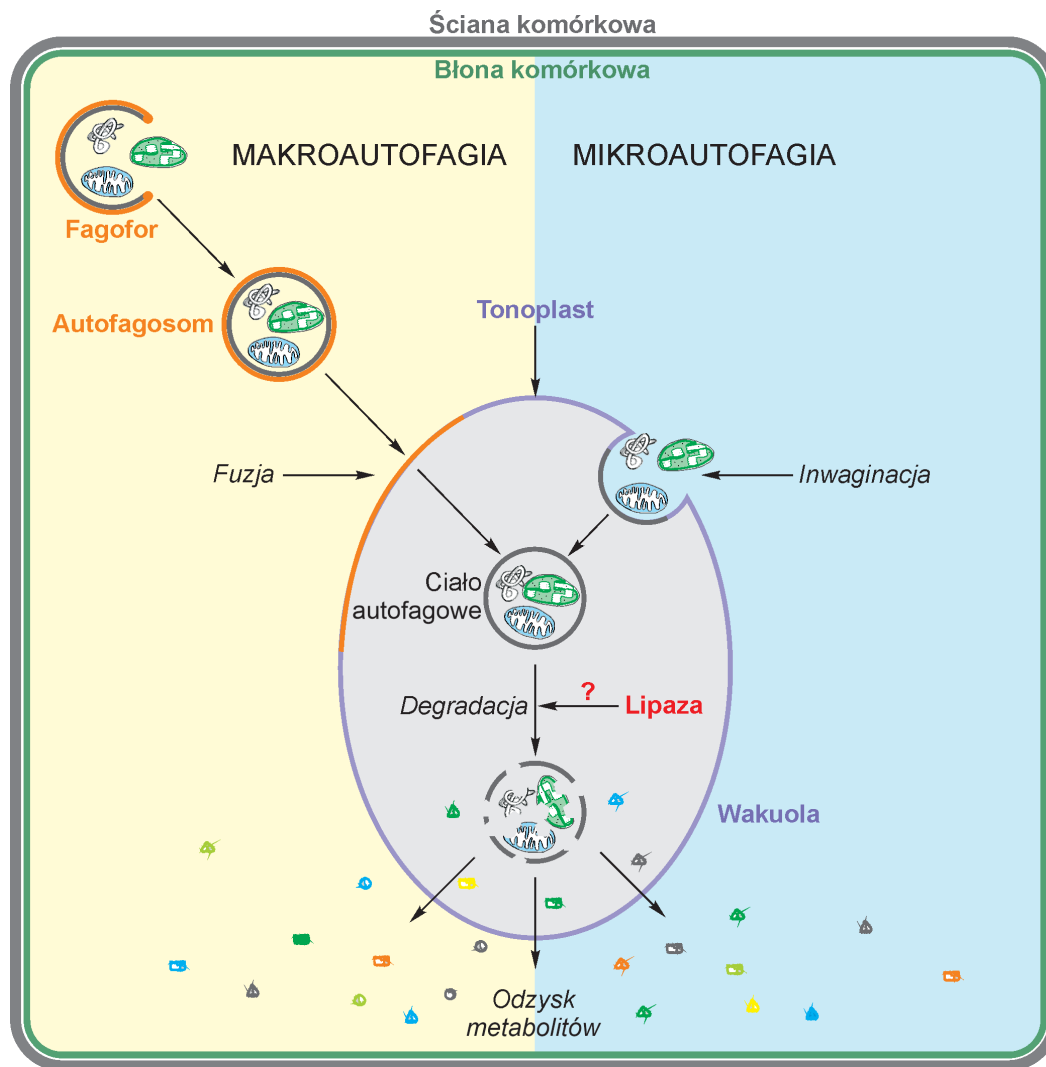
Lipazy mogą być zaangażowane w reakcje roślin na abiotyczne i biotyczne czynniki stresowe [1,9,10]. Spośród czynników abiotycznych jednymi z najpowszechniej oddziałujących na rośliny są susza i zasolenie. Analiza bioinformatyczna danych transkryptomicznych soi (*Glycine max*) umożliwiła zidentyfikowanie puli genów kodujących lipazy GDSL, których poziom ekspresji był uzależniony od stresu (ang. *stress-responsive*). Nadekspresja jednego z takich genów (*GmGELP28*) w *Arabidopsis thaliana* pozwoliła uzyskać u zmutowanych roślin zwiększoną odporność na suszę i zasolenie [37]. Podwyższoną tolerancję na suszę przejawiał również mutant *Arabidopsis thaliana* z nadekspresją genu kodującego lipazę *CaGLIP1* z pieprzu (*Cap-sicum annuum*) [38]. Mutanty ryżu czy pomidora w obrębie wybranych genów lipaz GDSL (*WDL1*, *GDSL1*, *SIGDSL1/CD1*) przejawiały zwiększoną transpirację i ubytek wody i tym samym były bardziej wrażliwe na suszę. Przypuszcza się, że udział lipaz w reakcjach obronnych roślin na suszę związany jest z rolą tych enzymów w prawidłowym wykształceniu kutykuli i warstwy wosków [10]. W odpowiedzi roślin na zasolenie i stres osmotyczny zaangażowane mogą też być lipazy (fosfolipazy) *DAD1* i *DAD1-like* (ang. *DEFECTIVE IN ANOTHER DEHISCENCE1*), które uważa się za komponent sieci sygnałnych uruchomionych m.in. w warunkach stresu osmotycznego [39]. Innym stresowym czynnikiem abiotycznym znacząco ograniczającym wzrost i rozwój roślin jest chłód. Wykazano, że chłód obniżał ekspresję genów *MPL1* i *LIP1* kodujących lipazy triacylogliceroli u *Arabidopsis thaliana*. Zaobserwowano, że mutacja *mpl1* miała mały wpływ na globalne zmiany w transkryptomie mutantu, podczas gdy mutacja *lip1* w znaczący już sposób zmieniała transkryptom, zarówno w warunkach kontrolnych jak i w warunkach chłodu. U podwójnego mutantu *mpl1lip1* zaobserwowano addytywny i pozytywny efekt w odpowiedzi rośliny na chłód, dlatego uważa się, że lipazy *MPL1* i *LIP1* są negatywnymi regulatorami tolerancji na chłód u *Arabidopsis thaliana*. A zważywszy ponadto na fakt, że mutacje nie wywołują wyraźnych negatywnych efektów ubocznych przejawiających się we wzroście *Arabidopsis thaliana*, pokłada się duże nadzieje w tych dwóch lipazach w pracach hodowlanych, których celem jest stworzenie roślin uprawnych odpornych na chłód [40]. Przeciwnym do chłodu czynnikiem stresowym jest ciepło i również w reakcjach obronnych roślin na ten abiotyczny czynnik stresowy uczestniczyć mogą lipazy. W warunkach stresu cieplnego u wielu gatunków roślin zachodzi uwalnianie wielonienasyconych grup acylowych z acylogliceroli chloroplastowych. Przykładem takich acyli jest kwas linolenowy (18:3) czy kwas heksadekatrienowy (16:3). Badania przeprowadzone na 17-dniowych siewkach *Arabidopsis thaliana* rosnących w temperaturze 38°C pokazały, że lipaza *HIL1* (ang. *HEAT INDUCIBLE LIPASE1*) indukuje rozkład monogalaktylodiacylogliceroli w liściach i uwalnia z tych lipidów kwas linolenowy (18:3), ale nie uwalnia kwasu stearynowego (18:0) i palmitynowego (16:0). Enzym ten zlokalizowany jest w chloroplastach i uważa się, że *HIL1* odgrywa ważną rolę

w procesie przebudowy składu lipidowego roślin w warunkach stresu cieplnego [41].

W kielkujących ziarniakach ryżu zaobserwowano spowolnienie degradacji zapasowego tłuszczu i spadek aktywności lipaz podczas stresu biotycznego wywołanego infekcją grzyba *Fusarium verticillioides* [32]. Mogłoby to sugerować brak istotnej roli lipaz w reakcji obronnej na atak patogena. Niemniej jednak mutanty *Arabidopsis thaliana glip1* były wyraźnie bardziej podatne na infekcję nekrotroficznego grzyba *Alternaria brassicicola*, a *glip2* na infekcję nekrotroficznej bakterii *Erwinia carotovora*. Z kolei ograniczenie ekspresji genów *GLIP1* i *GLIP2* u ryżu wzmacniało odporność zarówno na infekcje grzybowe jak i bakteryjne, a nadekspresja tych genów zmniejszała tolerancję na patogeny. Lipaza *GLIP1* może zwiększać odporność rośliny na infekcję patogena grzybowego w dwojaki sposób: albo poprzez bezpośrednie niszczenie struktury ściany komórkowej zarodników grzyba, albo uczestnicząc w etylenowej sieci sygnałnej aktywowanej w roślinie podczas infekcji [10]. Rola lipaz GDSL w reakcjach obronnych podczas infekcji patogenów badana jest często w powiązaniu z funkcjonowaniem roślinnych sieci sygnałnych, w których czynnikiem regulatorowym są etylen, kwas salicylowy, kwas jasmonowy, czy auksyny [1,9,10]. Generalnie rzecz ujmując, rola roślinnych lipaz GDSL w interakcjach rośliny i patogena nie jest jednoznaczna i może być bardzo różnicowana w zależności od gatunku [9]. Hormony roślinne są również istotnym komponentem odpowiedzi na zranienie, które może być skutkiem nie tylko aktywności patogena mikrobiologicznego, ale też np. efektem żerowania owadów na roślinie. W reakcjach roślin na zranienie obserwuje się intensywny wzrost biosyntezy kwasu jasmonowego, który zwiększa ekspresję genów odporności na patogeny czy owady. Wykazano, że zranienie indukuje ekspresję genów *DAD1* i *DAD1-like* u *Arabidopsis thaliana* [42].

UDZIAŁ LIPAZ W AUTOFAGII U ROŚLIN

Autofagia, inaczej „samozjadanie”, to proces ewolucyjnie konserwatywny i można go opisać jako wewnątrzkomórkowy szlak kataboliczny polegający na auto-degradacji różnych elementów komórki, w tym organelli, fragmentów cytoplazmy, kompleksów białkowych i innych makrocząstek [43,44]. Wyróżnia się dwa główne typy autofagii u roślin: makroautofagię i mikroautofagię (Ryc. 3). Każdy z tych dwóch rodzajów autofagii jest procesem selektywnym, czyli komponenty komórki ulegają degradacji wybiórczej. Przykładami selektywności autofagii może być mitofagia, podczas której na drodze autofagii degradowane są mitochondria [45,46], peksofagia, czyli wybiórcza, autofagiczna degradacja peroksysomów [45,47], czy lipofagia – degradacja całych ciał olejowych wewnątrz wakuoli [45]. W trakcie makroautofagii, przeznaczone do degradacji elementy komórki (ładunek, ang. *cargo*) otaczane są stopniowo przez strukturę zwaną fagoforem, a całkowicie już zamknięty ładunek w podwójnej błonie nazywany jest autofagosomem. Dalsze etapy makroautofagii zachodzą w odmienny sposób w komórkach grzybów i roślin oraz zwierząt. U grzybów i roślin zewnętrzna błona autofagosomu łączy się z tonoplastem, tworząc wewnątrz wakuoli ciało autofagowe, które następnie degradowane jest przez wakuolarnie enzymy



Rycina 3. Schemat przebiegu makro- i mikroautofagii w komórkach roślinnych wraz z hipotetycznym udziałem lipaz w dekompozycji ciała autofagowego. W trakcie makroautofagii, przeznaczone do degradacji komponenty komórki (tzw. ładunek; ang. *cargo*) otoczone są na terenie cytoplazmy fagoforem, czyli spłaszczonym pęcherzykiem zbudowanym z podwójnej błony lipidowo-białkowej. Fagofor powiększa się i w pełni oddziela ładunek od cytoplazmy, a powstała w ten sposób struktura nazywana jest autofagosomem. Ładunek przekazany zostaje do wnętrza wakuoli poprzez fuzję zewnętrznej błony autofagosomu z tonoplastem. W świetle wakuoli powstaje ciało autofagowe. W procesie mikroautofagii fagofor i autofagosom nie powstają, a przeznaczony do autofagicznej degradacji ładunek wnika do wnętrza wakuoli poprzez inwaginację tonoplastu, tworząc ciało autofagowe. Niezależnie od pochodzenia, makro- czy mikroautofagicznego, ciało autofagowe ulega błyskawicznej degradacji katalizowanej przez wakuolarnie enzymy hydrolityczne, a produkty dekompozycji ciała autofagowego transportowane są do cytoplazmy i ponownie wykorzystywane w procesach metabolicznych. Jak do tej pory nieznane są enzymy uczestniczące w degradacji ciała autofagowego u roślin. Hipotetycznie takimi enzymami mogą być wakuolarnie enzymy procesujące (VPE) [43,48,49], a na podstawie analogii do drożdżowego Atg15 sformułować można kolejną hipotezę, zakładającą udział lipaz w degradacji ciała autofagowego w komórkach roślinnych [24].

lityczne. U zwierząt autofagosom łączy się bezpośrednio z lizosomem, który dostarcza enzymy lityczne, tworząc autolizosom [43]. W trakcie mikroautofagii nie dochodzi do powstania autofagosomu. Następuje za to wgłębienie (inwaginacja) w błonie wakuolarniej, po której zasklepieniu wewnątrz wakuoli powstaje ciało autofagowe [43]. Proces degradacji ciał autofagowych w komórkach roślinnych jest zbadany w bardzo niewielkim stopniu. Wiadomo, że degradacja ciał autofagowych zachodzi błyskawicznie [43], ale nie wiadomo jakie enzymy uczestniczą w tym etapie autofagii. Przypuszcza się tylko, że u roślin mogą to być wakuolarnie enzymy procesujące (VPE) [43,48,49]. U drożdży jednym z enzymów biorących udział w degradacji ciał autofagowych jest białko Atg15. Dane literaturowe nie są jednoznaczne i wskazują, że jest to lipaza, potencjalna lipaza, albo białko o aktywności lipolitycznej [43,50]. Według

innych źródeł jest to fosfolipaza [51,52], ale dostępne są też dane literaturowe wskazujące na to, iż Atg15 jest zarówno lipazą jak i fosfolipazą [19]. Jak do tej pory nie znaleziono homologów tego białka u innych grup organizmów, w tym u roślin, niemniej jednak trwają prace poszukujące roślinne analogi drożdżowego Atg15. Analiza bioinformatyczna transkryptomu osi zarodkowych kiełkujących nasion łubinu pozwoliła zidentyfikować 90 transkryptów genów kodujących lipazy w osiach zarodkowych nasion łubinu białego (*Lupinus albus*) i 111 transkryptów w osiach nasion łubinu andyjskiego (*Lupinus mutabilis*). Spośród tych genów, 38 wykazało prawdopodobnie wakuolarną lokalizację kodowanych przez nie białek, a analiza filogenetyczna wskazała podobieństwo 3 potencjalnie wakuolarnych lipaz łubiniowych do drożdżowego Atg15. Porównanie sekwencji aminokwasowych wyselekcjonowanych w ten sposób 3 lipaz

łubinowych z drożdżowym Atg15 pokazało, że najwyższy stopień podobieństwa występuje w rejonie centrum aktywnego badanych enzymów. Na tej podstawie sformułowano hipotezę, że w degradacji ciał autofagowych u roślin uczestniczyć mogą lipazy [24].

Analiza ultrastruktury komórek głodzonych osi zarodkowych łubinu, w których obserwuje się zaawansowane procesy autofagiczne, wykazała lokalizację ciał olejowych wewnątrz ciał autofagowych w wakuolach, co wskazuje na lipofagię [23,47]. Z dużym prawdopodobieństwem, wewnątrz ciał autofagowych w wakuolach komórek głodzonych osi zarodkowych łubinu obserwowano również peroksosomy, co potwierdzałoby peksofagię [23,47]. Skoro lipazy w normalnych warunkach są zasocjowane z błoną peroksosomu i działają na powierzchni ciał olejowych (Ryc. 2), to rodzi się pytanie, czy aktywne lipazy mogą być przetransportowane z tymi organellami do wakuoli poprzez autofagosom w procesie lipofagii czy peksofagii? A jeśli tak, to czy enzymy te uczestniczą w degradacji ciał autofagowych? A może lipazy przetransportowane do wakuoli w taki sposób są po prostu autofagicznym ładunkiem i ulegają szybkiej i niespecyficznemu proteolitycznej degradacji tracąc swą aktywność lipolityczną? Takie pytania wpisują się w wyżej sformułowaną hipotezę o udziale lipaz w degradacji ciał autofagowych w komórkach roślinnych, ale aktualnie powstają bez odpowiedzi.

WYKORZYSTANIE LIPAZY ROŚLINNYCH W PRZEMYSŁE

Lipazy, ze względu na dużą różnorodność i wydajność katalizowanych reakcji uważane są za jedne z najważniejszych biokatalizatorów wykorzystywanych w przemyśle [8,13,53,54]. Aplikacyjny sukces tych enzymów wiąże się nie tylko z szeroką specyficnością substratową, ale też z wysoką stabilnością enzymu w szerokim spektrum temperatury czy pH, oraz brakiem konieczności stosowania kofaktorów reakcji [55]. Zastosowanie w biotechnologii znalazły lipazy mikrobiologiczne, zwierzęce i roślinne, aczkolwiek lipazy mikrobiologiczne są stosowane najczęściej. Około połowa lipaz komercyjnych produkowana jest z drożdży i grzybów nitkowatych [56]. Przyczyną powszechności stosowania lipaz mikrobiologicznych jest szybki wzrost kultur i niskie koszty hodowli, oraz wysoka stabilność i szeroka specyficność substratowa tych enzymów [8,13,53,54,57]. Niemniej jednak warto zaznaczyć, że koszty pozyskiwania i przetwarzania lipaz roślinnych są coraz niższe i stają się konkurencyjne w odniesieniu do lipaz mikrobiologicznych [9,54]. W porównaniu do lipaz mikrobiologicznych, lipazy roślinne mogą być ekstrahowane ze źródeł nisko kosztowych, takich jak biomasa [56] i mogą być używane bezpośrednio po pozyskaniu i częściowym tylko oczyszczeniu [58]. Ponadto rośliny nie muszą być genetycznie modyfikowane, aby być źródłem lipaz do zastosowań przemysłowych [56]. Dlatego lipazy roślinne coraz powszechniej znajdują zastosowania biotechnologiczne zarówno na etapie badań, prac rozwojowych, jak i wdrożeń przemysłowych.

ŹRÓDŁA LIPAZ ROŚLINNYCH

Lipazy pozyskiwać można z różnych części roślin. Mogą to być nasiona, owoce (w tym ziarniaki), lateks, liście, otręby [54] czy biomasa [56]. Najczęściej lipazy pozyskuje się z nasion lub ziarniaków takich roślin jak: rącznik pospolity (*Ricinus communis*), afrykańska fasola oleista (*Pentaclethra macrophylla*), wiaź (*Ulmus*), słonecznik (*Helianthus annuus*), jatrofa przeczyszczająca (*Jatropha curcas*), łubin (*Lupinus*), len (*Linum usitatissimum*), migdałowiec (*Prunus amygdalus*), czarnuszka siewna (*Nigella sativa*), pszenica (*Triticum*), ryż (*Oryza sativa*), kukurydza (*Zea mays*), owies (*Avena sativa*), jęczmień (*Hordeum vulgare*), sezam (*Sesamum*), sorgo (*Sorghum bicolor*), rzepak (*Brassica napus*), czy dynia piżmowa (*Cucurbita moschata*). Źródłem lipaz roślinnych może być również mezokarp owoców olejowca gwinejskiego (palmy olejowej *Elaeis guineensis*) czy owoce męczennicy jadalnej (*Passiflora edulis*) [13,54]. Stosując jednak tradycyjne strategie ekstrakcji i oczyszczania lipaz, niektóre źródła roślinne są nieatrakcyjne dla zastosowań przemysłowych ze względu na niską zawartość lipaz w tkankach i organach roślinnych, albo niestabilność i utratę aktywności enzymu w procesie oczyszczania [58]. Aby przezwyciężyć takie trudności, opracowuje się nowe procedury pozyskiwania lipaz z materiału roślinnego, w tym również z niejadalnych części roślin [54].

REAKCJE KATALIZOWANE PRZEZ LIPAZY WAŻNE DLA ZASTOSOWAŃ BIOTECHNOLOGICZNYCH

Specyficzność substratowa lipaz warunkowana jest przez cechy molekularne enzymu, strukturę chemiczną substratu i warunki reakcji. W obrębie struktury lipaz głównymi wyznacznikami specyficznosci substratowej lipaz są: miejsce wiązania substratu (miejsce aktywne) i wieko [7]. Miejsce aktywne znajduje się głęboko w strukturze białka, dlatego substrat wiąże się z miejscem aktywnym poprzez kieszeń, która zlokalizowana jest na szczycie centralnej β -harmonijki. Budowa miejsca aktywnego lipaz różni się rozmiarem, strukturą czy cechami fizykochemicznymi (hydrofobowość reszt aminokwasowych wyścielających kieszeń). Zróznicowanie strukturalne miejsca aktywnego ma pozytywny wpływ na reaktywność z określoną długością reszt kwasów tłuszczowych, które wchodzi w skład triacylogliceroli [7]. Lipazy GDGL, ze względu na bardziej elastyczną strukturę enzymu niż typowe lipazy GSG, cechują się szerszą specyficnością substratową [10], dlatego oprócz typowej aktywności lipolitycznej, niektóre lipazy GDGL wykazują również aktywność tioesterazową, proteazową, aryloesterazową, czy lizofosfolipazową [1]. Takie właściwości tej grupy lipaz zwiększają ich potencjał biotechnologiczny i sprzyjają ich częstszemu wykorzystywaniu w różnych gałęziach przemysłu. Wieko, to drugi element strukturalny, który odpowiada nie tylko za ustalanie konformacji zamkniętej lub otwartej enzymu, ale także warunkuje specyficznosc substratową lipaz, w tym lipaz roślinnych. Wieko może wykazywać zmienność funkcjonalną, jak i zmienność w rozmiarze. Każda zmiana w budowie oraz wielkości wieczka może prowadzić do powstania różnych izoform enzymu, które mogą różnić się od oryginalnej formy enzymu specyficnością substratową [4,7,11], ale też aktywnością czy termostabilnością [11].

Pomimo tego, że zasadniczą reakcją katalizowaną przez lipazy w komórkach jest hydroliza wiązań estrowych w acyloglicerolach [1,6,12,14,15], to w warunkach *in vitro*, a w szczególności w medium niewodnym, enzymy te mogą katalizować wiele innych reakcji chemicznych. Wymienić tutaj można następujące typy reakcji chemicznych [54,59]:

- hydroliza estrów;
- synteza estrów;
- transestryfikacje (interestryfikacja, alkoholiza, acydoliza);
- hydroliza amidów;
- synteza amidów;
- aminoliza;
- hydroliza estrów tiolowych
- synteza estrów tiolowych;
- synteza wodoronadtlenków kwasów karboksylowych.

Specyficzność substratową lipaz w aspekcie zastosowań biotechnologicznych, ale również ich naturalnej roli w organizmach żywych, analizować można w następujących obszarach:

- substratospecyficzność – lipazy katalizują przede wszystkim hydrolizę tri-, di- i monoacylogliceroli [1,6,12,14,15]. Substratami lipaz mogą też być fosfolipidy, np. lipaza PLIP [18] czy Atg15 [19]. Oprócz wyżej wymienionych związków nierozpuszczalnych w wodzie (hydrofobowych lub amfifilowych), do substratów lipaz zaliczyć również można związki rozpuszczalne [6,7];
- regiospecyficzność – lipazy mogą być *sn*-1,3-specyficzne (hydrolizują wiązania estrowe w pozycji R1 lub R3 triacyloglicerolu), *sn*-2-specyficzne (hydrolizują wiązanie R2 triacyloglicerolu), oraz niespecyficzne (hydrolizują wiązanie estrowe w dowolnym położeniu triacyloglicerolu) [55,59];
- acylospecyficzność – lipazy wykazują specyficzność dla danego kwasu lub klasy kwasów tłuszczowych niezależnie od ich pozycji w szkieletcie glicerolu. Lipazy w niewielkim stopniu rozróżniają długość nienasyconych kwasów tłuszczowych i ze zbliżoną szybkością hydrolizują wiązania estrowe pomiędzy glicerolem a resztą acylową o długości od 2 do 18 atomów węgla. Znacznie wyższą specyficzność i większą efektywność hydrolizy lipazy wykazują względem kwasów tłuszczowych nienasyconych [55,59];
- stereospecyficzność – lipazy rozróżniają konformację przestrzenną enancjomerów grup acylowych [55].

APLIKACYJNY POTENCJAŁ LIPAZ ROŚLINNYCH

W przemyśle spożywczym zazwyczaj stosuje się lipazy mikrobiologiczne, które wykorzystuje się najczęściej do wytwarzania produktów mlecznych, wypieków i soków owocowych, a także do interestryfikacji tłuszczów i olejów w celu wytworzenia zmodyfikowanych acylogliceroli będących źródłem i nośnikiem smaków i aromatów [13]. Taka selektywna hydroliza, czy modyfikacja tłuszczów może być katalizowana również przez lipazy pozyskiwane z nasion i może ona być zastosowana w celu uwalniania specyficznego smaku, koloru i zapachu żywności [60]. W przemy-

śle mleczarskim stosowane są zazwyczaj lipazy zwierzęce i mikrobiologiczne i wykorzystuje się je w celu hydrolizy tłuszczu mlecznego, a modyfikacja długości łańcuchów kwasów tłuszczowych poprawia smak serów i nadaje produktom mleczarskim charakterystyczne walory smakowe. Lipazy mogą również przyspieszać proces dojrzewania sera [53]. W typowym przemyśle mleczarskim lipazy roślinne nie znajdują zastosowań, ale roślinna lipaza pozyskiwana z lateksu melonowca właściwego (*Carica papaya*) może być wykorzystana do syntezy niskokalorycznych krótko- i długołańcuchowych triacylogliceroli, które mogą być dodawane do preparatów mleko zastępczych [58], ale również do chipsów, panierek, dipów, wyrobów piekarniczych lub jako zamienniki masła kakaowego. Lipazę z kielkujących ziarniaków pszenicy (*Triticum*) można wykorzystać do poprawy jakości makaronów. Lipaza dodana do mąki pozwala na wyeliminowanie jaj w produkcji makaronu i tym samym zwiększa ona elastyczność makaronu z jednoczesnym zmniejszeniem jego kleistości [61].

W przemyśle farmaceutycznym lipazy (głównie mikrobiologiczne) mogą być wykorzystywane ze względu na ich stereoselektywność, która jest istotna w produkcji optycznie czystych enancjomerów. Takie związki wykazują większą skuteczność działania terapeutycznego, a także wywołują mniej skutków ubocznych i wykorzystywane są np. do produkcji niesteroidowych leków przeciwzapalnych, czy leków stosowanych przy nadciśnieniu [62]. W przemyśle farmaceutycznym swoje zastosowanie znalazły także lipazy roślinne, które są bezpieczniejsze w użyciu od lipaz mikrobiologicznych nawet w częściowo oczyszczonej formie. Przykładem może być lipaza pozyskana z lateksu melonowca właściwego (*Carica papaya*), charakteryzująca się *sn*-3 stereoselektywnością i bardzo wąską specyficznością substratową [58]. Zastosowania farmaceutyczne opisywane są również dla lipazy pozyskiwanej z kielkujących ziarniaków pszenicy (*Triticum*), którą wykorzystać można do regioselektywnej hydrolizy diestrowych metabolitów pośrednich w syntezie niektórych antybiotyków β -laktamowych, otrzymując pożądany monoester z 80% wydajnością z jednoczesnym obniżeniem kosztów poprzez eliminację drogich odczynników nieenzymatycznych [61]. Medyczne zastosowania lipaz roślinnych były badane w stanach niewydolności trzustki, które wynikały z chorób takich jak mukowiscydoza i zespół Shwachmana-Diamonda. Przykładem może być tutaj lipaza wyekstrahowana z owsa (*Avena sativa*), którą wykorzystywano w badaniach ze względu na stabilność w środowisku kwaśnym i odporność na degradację przez kwasy żołądkowe. Innym przykładem medycznego wykorzystania lipaz roślinnych jest lipaza z lateksu melonowca właściwego. Wykazano, że katalizuje ona reakcję estryfikacji kwasem oleinowym fitosteroli pochodzących z oleju rzepakowego, a powstały produkt jest w stanie skutecznie obniżać poziom cholesterolu we krwi [58].

W przemyśle kosmetycznym lipazy wykorzystuje się przede wszystkim w celu produkcji związków powierzchniowo czynnych i zapachowych. Związki takie można wytwarzać z mono- i diacylogliceroli m.in. poprzez katalizowane przez lipazy reakcje estryfikacji lub transestryfikacji [54]. Lipazy mogą być wykorzystywane nie tylko jako biokatalizatory w syntezie komponentów kosmetycznych,

ale mogą występować w kosmetykach lub preparatach medycznych jako składniki aktywne [63]. Lipazy mogą być na przykład składnikiem kremów albo doustnych preparatów wspomagających utratę wagi poprzez degradację tłuszczu [54]. Lipazy mogą być składnikiem kosmetyków służących do oczyszczania powierzchni skóry, masek do włosów czy twarzy. I to właśnie w tego typu produktach znajdują zastosowania również lipazy roślinne. Przykładem jest lipaza uzyskiwana z kielkujących ziarniaków pszenicy (*Triticum*), która poprawia parametry tego rodzaju kosmetyków w aspekcie balansu w aktywności powierzchniowej wymaganej do efektywnego mycia, a nadmiernym odtłuszczeniem, wysuszeniem czy podrażnianiem skóry. Nie bez znaczenia pozostają również takie zalety jak pożądane cechy organoleptyczne, oddziaływanie na środowisko czy koszty wytworzenia kosmetyków, gdyż np. wzbogacenie kosmetyków w lipazy z pszenicy umożliwi ograniczenie stosowania detergentów syntetycznych. Płynne preparaty do mycia twarzy zawierają 1% lipazy z ziarniaków pszenicy, która stabilizowana jest agarą oraz EDTA jako czynnik stabilizujący odpowiednio dla skóry pH [61].

Biodiesel to rodzaj paliwa, w skład którego wchodzi estry długocząsteczkowych kwasów tłuszczowych pozyskiwanych z olejów roślinnych [56]. Pomimo tego, że roślinne surowce do produkcji biodiesla są łatwo dostępne, to rozwojowe prace biotechnologiczne skupiają się na pozyskaniu tego biopaliwa z niejadalnych części roślin, aby nie zwiększać popytu i nie konkutować z produkcją żywności [54]. Z produkcją biodiesla wiąże się transestryfikacja triacylogliceroli z alkoholami, którą przeprowadzać można z wykorzystaniem lipaz głównie mikrobiologicznych, ale też zwierzęcych i roślinnych [8,54,56]. Spośród roślinnych lipaz wykorzystywanych do produkcji biodiesla stosowane są lipazy z melonowca właściwego (*Carica papaya*) i jatrofy (*Jatropha curcas*) [56]. Obiecującą roślinną lipazą dla produkcji biodiesla zdaje się być lipaza pozyskiwana z kielkujących ziarniaków pszenicy (*Triticum*) [61]. Oprócz reakcji transestryfikacji, lipazy mogą również katalizować estryfikację wolnych kwasów tłuszczowych z alkoholem, umożliwiając produkcję biodiesla ze zużytych olejów bądź tłuszczów o wysokiej zawartości wolnych kwasów tłuszczowych. Estryfikacja katalizowana przez lipazy roślinne dodatkowo zmniejsza lepkość oleju poprzez zastąpienie glicerolu alkoholem metylowym lub etylowym [58]. W badaniach związanych z wytwarzaniem biodiesla zwraca się uwagę na nasiona roślin jako źródło surowca. Wprawdzie nasiona zazwyczaj przeznaczone są na produkcję żywności dla człowieka, albo na paszę dla zwierząt hodowlanych, ale są one też interesującym obiektem dla produkcji biodiesla, gdyż w trakcie kiełkowania nasion w naturalny sposób pojawiają się w nich lipazy. Takie połączenie zarówno oleju jak i biokatalizatora w jednym surowcu stwarza potencjał dla uproszczenia produkcji i obniżenia kosztów wytwarzania takiego biopaliwa [56].

W przemyśle chemicznym lipazy w połączeniu z proteazami i amylazami wykorzystuje się w produkcji detergentów [54]. Lipazy są najczęściej dodawane do domowych czy przemysłowych środków piorących i czyszczących, ułatwiających usuwanie zanieczyszczeń tłuszczowych. Absorbują się one na powierzchni tkanin i tworzą kompleks tkanina-

-lipaza, który katalizuje rozpad wiązań chemicznych płamy tłuszczowej po dodaniu wody [54,62]. Lipazy są dodawane także do płynów do mycia naczyń, wybielaczy i środków do czyszczenia skóry. Lipazy stosowane w detergentach muszą charakteryzować się stabilnością w określonych, często skrajnych wartościach pH (10-11) i temperatury (30-60°C), odpornością na inne składniki preparatu (np. proteazy) oraz szeroką specyficznością substratową [8,60,62]. Obiecującymi lipazami roślinnymi dla takich zastosowań zdają się być lipazy pochodzące z ziarniaków ryżu (*Oryza sativa*) i owsa (*Avena sativa*), gdyż są stabilne w środowisku alkalicznym i w temperaturze około 60°C [60]. Bardzo obiecującą i aktualnie szeroko badaną lipazą roślinną jest lipaza pozyskiwana z kielkujących ziarniaków pszenicy (*Triticum*), która katalizuje szereg reakcji chemicznych ważnych nie tylko dla zastosowań w przemyśle chemicznym, ale też farmakologicznym czy spożywczym. Szczególną uwagę i duże nadzieje pokłada się w dużym potencjale tej lipazy w tzw. 'chemii zielonej', czyli projektowaniu produktów chemicznych i procesów, które ograniczają lub eliminują zużycie lub wytwarzanie substancji niebezpiecznych [61].

PODSUMOWANIE

Lipazy to enzymy występujące nie tylko u roślin, ale również w organizmach grzybów, zwierząt, jak i w mikroorganizmach. U roślin uczestniczą one w wielu procesach rozwojowych, począwszy od kiełkowania nasion, a na wykształceniu owoców kończąc. Enzymy te zaangażowane są w utrzymanie homeostazy komórki i organizmu roślinnego oraz są ważnym komponentem reakcji roślin na biotyczne i abiotyczne czynniki stresowe. Przypuszcza się, że lipazy u roślin mogą uczestniczyć również w autofagii (w degradacji ciał autofagowych), która zachodzi na każdym etapie ontogenezy roślin, zarówno w warunkach normalnych jak i stresowych. Lipazy roślinne wprawdzie znajdują zastosowania w przemyśle, ale ich biotechnologiczne wykorzystanie w porównaniu do lipaz mikrobiologicznych pozostaje raczej w skali szczątkowej. Roślinne lipazy stosuje się między innymi w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym, kosmetycznym, ale też w produkcji biodiesla i przemyśle chemicznym. Niemniej jednak lipazy roślinne aktualnie bardziej są obiektem prac badawczych i rozwojowych, aniżeli wdrożeniowych. Aktualne działania mające na celu opracowanie nowych zastosowań dla lipaz (w tym lipaz roślinnych) czy zoptymalizowanie opracowanych już procedur biotechnologicznych zapewne zaowocują w przyszłości ich nowym i efektywniejszym wykorzystaniem w wielu aspektach działalności człowieka, zarówno tych poznawczych jak i aplikacyjnych.

PIŚMIENNICTWO

1. Lee HJ, Park OK (2019) Lipases associated with plant defense against pathogens. *Plant Sci* 279: 51-58
2. Zechner R, Zimmermann R, Eichmann TO, Kohlwein SD, Haemmerle G, Lass A, Madeo F (2012) FAT SIGNALS - lipases and lipolysis in lipid metabolism and signaling. *Cell Metab* 15: 279-291
3. Cygler M, Schrag JD, Ergon F (1992) Advances in structural understanding of lipases. *Biotechnol Genet Eng Rev* 10: 143-184
4. Sankar S, Ponnuraj K (2020) Less explored plant lipases: Modeling and molecular dynamics simulations of plant lipases in different solvents and temperatures to understand structure-function relationship. *Int J Biol Macromol* 164: 3546-3558

5. Nardini M, Dijkstra BW (1999) α/β hydrolase fold enzymes: the family keeps growing. *Curr Opin Struc Biol* 9: 732-737
6. Casas-Godoy L, Gasteazoro F, Duquesne S, Bordes F, Marty A, Sandoval G (2018) Lipases: An overview. *Methods Mol Biol* 1835: 3-38
7. Lotti M, Alberghina L (2007) Lipases: Molecular structure and function, W: Polaina J., Maccabe PA (red.) *Industrial enzymes. Structure, function and applications*. Springer Dordrecht, Valencia, str. 263-283
8. Borrelli GM, Trono D (2015) Recombinant lipases and phospholipases and their use as biocatalysts for industrial applications. *Int J Mol Sci* 16: 20774-20840
9. Ding LN, Li M, Wang WJ, Cao J, Wang Z, Zhu KM, Yang YH, Li YL, Tan XL (2019) Advances in plant GDSL lipases: From sequences to functional mechanisms. *Acta Physiol Plant* 41: 1-11
10. Shen G, Sun W, Chen Z, Shi L, Hong J, Shi J (2022) Plant GDSL esterases/lipases: evolutionary, physiological and molecular functions in plant development. *Plants (Basel)* 11: 468
11. Khan FI, Lan D, Durrani R, Huan W, Zhao Z, Wang Y (2017) The lid domain in lipases: Structural and functional determinant of enzymatic properties. *Front Bioeng Biotechnol* 5: 16
12. Ischebeck T, Krawczyk HE, Mullen RT, Dyer JM, Chapman KD (2020) Lipid droplets in plants and algae: Distribution, formation, turnover and function. *Semin Cell Dev Biol* 108: 82-93
13. Melani NB, Tambourgi EB, Silveira E (2020) Lipases: From production to applications. *Sep Purif Rev* 49: 143-158
14. Zienkiewicz K, Zienkiewicz A (2020) Degradation of lipid droplets in plants and algae-right time, many paths, one goal. *Front Plant Sci* 11: 579019
15. Choi YJ, Zaikova K, Yeom SJ, Kim YS, Lee DW (2022) Biogenesis and lipase-mediated mobilization of lipid droplets in plants. *Plants (Basel)* 11: 1243
16. Borek S, Ratajczak W, Ratajczak L (2015) Regulation of storage lipid metabolism in developing and germinating lupin (*Lupinus* spp.) seeds. *Acta Physiol Plant* 37: 1-11
17. Eastmond PJ (2006) SUGAR-DEPENDENT1 encodes a patatin domain triacylglycerol lipase that initiates storage oil breakdown in germinating *Arabidopsis* seeds. *Plant Cell* 18: 665-675
18. Wang K, Froehlich JE, Zienkiewicz A, Hersh HL, Benning C (2017) A plastid phosphatidylglycerol lipase contributes to the export of acyl groups from plastids for seed oil biosynthesis. *Plant Cell* 29: 1678-1696
19. Kagohashi Y, Sasaki M, May AI, Kawamata T, Ohsumi Y (2023) The mechanism of Atg15-mediated membrane disruption in autophagy. *J Cell Biol* 222: e202306120
20. Wang SM, Huang AHC (1987) Biosynthesis of lipase in the scutellum of maize kernel. *J Biol Chem* 262: 2270-2274
21. Kelly AA, Shaw E, Powers SJ, Kurup S, Eastmond PJ (2013) Suppression of the SUGAR-DEPENDENT1 triacylglycerol lipase family during seed development enhances oil yield in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Plant Biotechnol J* 11: 355-361
22. Borek S, Nuc K (2011) Sucrose controls storage lipid breakdown on gene expression level in germinating yellow lupine (*Lupinus luteus* L.) seeds. *J Plant Physiol* 168: 1795-1803
23. Borek S, Stefaniak S, Nuc K, Wojtyła L, Ratajczak E, Sitkiewicz E, Malinowska A, Swiderska B, Wleklík K, Pietrowska-Borek M (2023) Sugar starvation disrupts lipid breakdown by inducing autophagy in embryonic axes of lupin (*Lupinus* spp.) germinating seeds. *Int J Mol Sci* 24: 11773
24. Wleklík K, Stefaniak S, Nuc K, Pietrowska-Borek M, Borek S (2024) Identification and potential participation of lipases in autophagic body degradation in embryonic axes of lupin (*Lupinus* spp.) germinating seeds. *Int J Mol Sci* 25: 90
25. Barros JAS, Siqueira JAB, Cavalcanti JHF, Araújo WL, Avin-Wittenberg T (2020) Multifaceted roles of plant autophagy in lipid and energy metabolism. *Trends Plant Sci* 25: 1141-1153
26. Qin Z, Wang T, Zhao Y, Ma C, Shao Q (2023) Molecular machinery of lipid droplet degradation and turnover in plants. *Int J Mol Sci* 24: 16039
27. Nikiforidis CV (2019) Structure and functions of oleosomes (oil bodies). *Adv Colloid Interfac* 274: 102039
28. Hsieh K, Huang AH (2004) Endoplasmic reticulum, oleosins, and oils in seeds and tapetum cells. *Plant Physiol* 136: 3427-3434
29. Ratajczak L (2007) Mobilizacja tłuszczów zapasowych w kielkujących nasionach roślin oleistych. W: Kruczyńska K (red) *Biologia komórki roślinnej tom 2- funkcja*, Polskie Wydawnictwo Naukowe, Warszawa, str. 327-330
30. Lopez-Juez E, Pyke KA (2005) Plastids unleashed: their development and their integration in plant development. *Int J Dev Biol* 49: 557-577
31. Eze SC, Chilaka FC, Akunwata CU (2007). Properties of lipase (Ec 3.1.1.3) from different varieties of maize. *Anim Res Int* 4: 650-652
32. Dolui AK, Vijayaraj P (2020) Functional omics identifies serine hydrolases that mobilize storage lipids during rice seed germination. *Plant Physiol* 184: 693-708
33. Muller AO, Ischebeck T. (2018) Characterization of the enzymatic activity and physiological function of the lipid droplet-associated triacylglycerol lipase AtOBL1. *New Phytol* 217: 1062-1076
34. Kram BW, Bainbridge EA, Perera MA, Carter C (2008) Identification, cloning and characterization of a GDSL lipase secreted into the nectar of *Jacaranda mimosifolia*. *Plant Mol Biol* 68: 173-183
35. Li X, Tieman D, Liu Z, Chen K, Klee HJ (2020) Identification of a lipase gene with a role in tomato fruit short-chain fatty acid-derived flavor volatiles by genome-wide association. *Plant J* 104: 631-644
36. Rivera I, Mateos-Diaz JC, Sandoval G (2012) Plant lipases: partial purification of *Carica papaya* lipase. *Methods Mol Biol* 861: 115-122
37. Su HG, Zhang XH, Wang TT, Wei WL, Wang YX, Chen J, Zhou YB, Chen M, Ma YZ, Xu ZS, Min DH (2020) Genome-wide identification, evolution, and expression of GDSL-type esterase/lipase gene family in soybean. *Front Plant Sci* 11: 726
38. Hong JK, Choi HW, Hwang IS, Kim DS, Kim NH, Choi DS, Kim YJ, Hwang BK (2008) Function of a novel GDSL-type pepper lipase gene, CaGLIP1, in disease susceptibility and abiotic stress tolerance. *Planta* 227: 539-558
39. Ellinger D, Kubigsteltig II (2010) Involvement of DAD1-like lipases in response to salt and osmotic stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signal Behav* 5: 1269-1271
40. Wang L, Qian B, Zhao L, Liang MH, Zhan X, Zhu J (2022) Two triacylglycerol lipases are negative regulators of chilling stress tolerance in *Arabidopsis*. *Int J Mol Sci* 23: 3380
41. Higashi Y, Okazaki Y, Takano K, Myouga F, Shinozaki K, Knoch E, Fukushima A, Saito K (2018) Remodels chloroplastic monogalactosyldiacylglycerol by liberating α -linolenic acid in *Arabidopsis* leaves under heat stress. *Plant Cell* 30:1887-1905
42. Ruduś I, Terai H, Shimizu T, Kojima H, Hattori K, Nishimori Y, Tsukagoshi H, Kamiya Y, Seo M, Nakamura K, Kępczyński J., Ishiguro S (2014) Wound-induced expression of DEFECTIVE IN ANther DEHISCENCE1 and DAD1-like lipase genes is mediated by both CORONATINE INSENSITIVE1-dependent and independent pathways in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Rep* 33: 849-860
43. Stefaniak S, Wojtyła L, Pietrowska-Borek M, Borek S (2020) Completing autophagy: formation and degradation of the autophagic body and metabolite salvage in plants. *Int J Mol Sci* 21: 2205
44. Wang S, Hu WM, Liu F (2022) Autophagy in the lifetime of plants: from seed to seed. *Int J Mol Sci* 23: 11410
45. Borek S, Ruta-Piosik M, Paluch-Lubawa E, Pietrowska-Borek M (2015) Selektywne rodzaje autofagii. *Postepy Biol Komorki* 42: 505-538
46. Zhang S, Peng XQ, Yang S, Li XY, Huang MY, Wei SB, Liu JX, He GP, Zheng HY, Yang L, Li H, Fan Q (2022) The regulation, function, and role of lipophagy, a form of selective autophagy, in metabolic disorders. *Cell Death Dis* 13: 132
47. Borek S, Stefaniak S, Śliwinski J, Garnczarska M, Pietrowska-Borek M (2019) Autophagic machinery of plant peroxisomes. *Int J Mol Sci* 20: 4754
48. Wleklík K, Borek S (2023) Vacuolar processing enzymes in plant programmed cell death and autophagy. *Int J Mol Sci* 24: 1198

49. Przybylak M, Wlekkik K, Stafiej A, Borek S (2023) Struktura molekularna i funkcje wakuolarnych enzymów procesujących w ontogenezie roślin. *Post Bioch* 69: 245-253
50. Hirata E, Shirai K, Kawaoka T, Sato K, Kodama F, Suzuki K (2021) Atg15 in *Saccharomyces cerevisiae* consists of two functionally distinct domains. *Mol Biol Cell* 32: 645-663
51. Watanabe Y, Iwasaki Y, Sasaki K, Motono C, Imai K, Suzuki K (2023) Atg15 is a vacuolar phospholipase that disintegrates organelle membranes. *Cell Rep* 42: 113567
52. Yamamoto H, Zhang S, Mizushima N (2023) Autophagy genes in biology and disease. *Nat Rev Genet* 24: 382-400
53. Ray A (2012) Application of lipase in industry. *AJPTech* 2: 33-37
54. Sarmah N, Revathi D, Sheelu G, Rani KY, Sridhar S, Mehtab V, Sumana C (2018) Recent advances on sources and industrial applications of lipases. *Biotechnol Progr* 34: 5-28
55. Sępka M, Gładowski W (2011) Właściwości i zastosowanie lipaz w biotechnologii. W: *CreativeTime (red) Nowe trendy w naukach przyrodniczych, part II*, str. 158-167
56. Cavalcante FTT, Neto FS, Falca IRD, Souza JED, de Moura LS, Sousa PD, Rocha TG, de Sousa IG, Lima Gomes PH, de Souza MCM, dos Santos JCS (2021) Opportunities for improving biodiesel production via lipase catalysis. *Fuel* 288: 119577
57. Chandra P, Enespa, Singh R, Arora PK (2020) Microbial lipases and their industrial applications: a comprehensive review. *Microb Cell Fact* 19: 1-42
58. Seth S, Chakravorty D, Dubey VK, Patra S (2014) An insight into plant lipase research - challenges encountered. *Protein Expres Purif* 95: 13-21
59. Antczak TG, Graczyk J (2002) Lipazy: źródła, struktura i właściwości katalityczne. *Biotechnologia* 57: 130-145.
60. Barros M, Fleuri LF, Macedo GA (2010) Seed lipases: sources, applications and properties - a review. *Braz J Chem Eng* 27: 15-29
61. Kublicki M, Koszelewski D, Brodzka A, Ostaszewski R (2022) Wheat germ lipase: isolation, purification and applications. *Crit Rev Biotechnol* 42: 184-200
62. Banczerz B (2017) Przemysłowe zastosowania lipaz. *Post Bioch* 63: 335-341
63. Ansorge-Schumacher MB, Thum O (2013) Immobilised lipases in the cosmetics industry. *Chem Soc Rev* 42: 6475-6490

Plant lipases - molecular structure, role in ontogeny and biotechnological potential

Alan Stafiej, Karolina Wleklik, Marta Przybylak, Sławomir Borek✉

Department of Plant Physiology, Faculty of Biology, Adam Mickiewicz University, Poznań

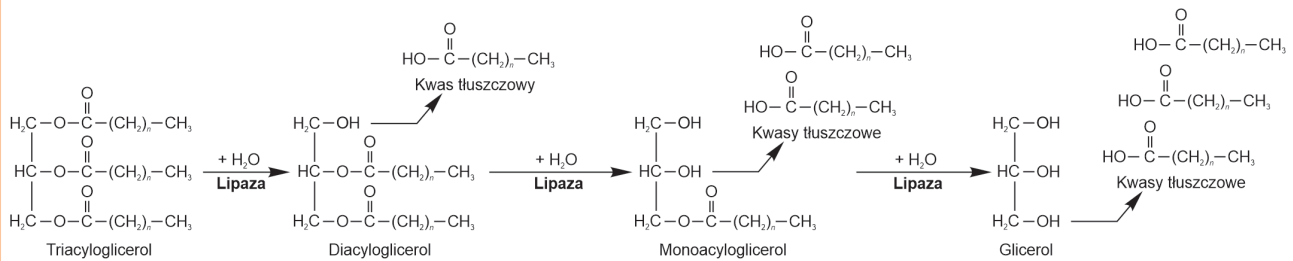
✉corresponding author: borek@amu.edu.pl

Keywords: autophagy, lipid droplet, lipids, lipolysis, industry

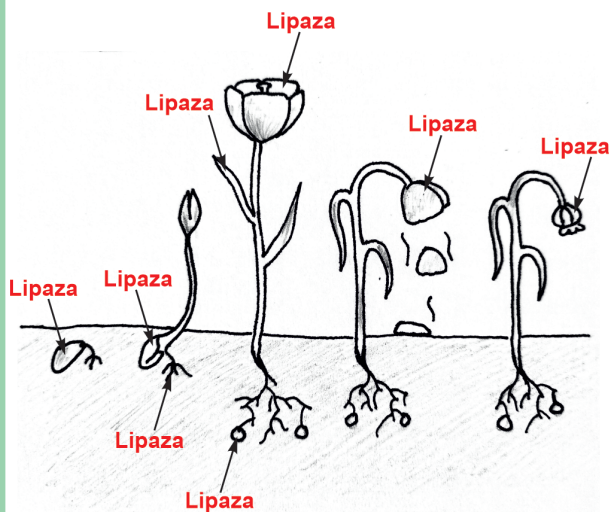
ABSTRACT

Lipases are enzymes commonly found in microorganisms, fungi, plants and animals. Their main function in cell metabolism is the hydrolysis (lipolysis) of ester bonds between fatty acids and glycerol in mono-, di- and triacylglycerols. In plants, lipases play an important role in ontogeny, participating in both vegetative development and generative stages. These enzymes may also be a component of plant responses to biotic and abiotic stresses. Based on the similarity of the amino acid sequence and vacuolar localization of some plant lipases to yeast Atg15, we present a hypothesis about the participation of lipases in autophagy (precisely, in the degradation of the autophagic body) in plants. Despite the narrow substrate specificity and the type of reactions catalysed in cells, lipases find numerous biotechnological applications. The physicochemical features of lipases, which determine, for example, wide substrate specificity *in vitro* or high stability in a wide range of pH and temperature, make these enzymes the subject of applied research, and plant lipases show an increasing potential in this area of science and industry.

LIPAZY ROŚLINNE



Ontogeneza roślin



Biotechnologia

